Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 2, Summer 2023, p. 169-183

The Effects of Physical Form of Alfalfa and Processing of Barley Grain on Nitrogen Retention, Activity of Cellulolytic Enzyme, Blood Parameters and Rumen Microbial Population in Dalagh Fattening Lambs

Raheleh Rajabi Aliabadi[1], Taghi Ghoorchi[2*], Nor Mohammad Torbati Nejad[2], Abdolhakim Toghdory[3], Mokhtar Mohajer[4], Reza Tahmasbi[5]

Received: 11-07-2022 Revised: 24-12-2022 Accepted: 26-12-2022 Available Online: 26-12-2022	**How to cite this article:** Rajabi Aliabadi, R., Ghoorchi, T., Torbati Nejad, N. M., Toghdory, A., Mohajer, M., & Tahmasbi, R. (2023). The effects of physical form of alfalfa and processing of barley grain on nitrogen retention, activity of cellulolytic enzyme, blood parameters and rumen microbial population in Dalagh fattening lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(2), 169-183. DOI: 10.22067/ijasr.2022.77388.1084

Introduction: The fodder used in animal feed is in the form of silage, crushed and pellets. If used a a pelleted form, the animal will spend less time for eating so the activity and the maintenance requirements will be decrease. Part of the improvement in pellet diet is due to less energy consumption during feeding. In other words, the use of pellet rations reduces the energy consumed by the animal for eating and also increases the availability of vital nutrients and energy (Fluharty *et al.*, 2017). Alfalfa is one of the forage plants that can produce more than two tons of protein per hectare per year. Pelleted alfalfa is a perfect feed for dairy cows, sheep and goats, horses, camels, rabbits and other livestock animals as it improves their performance and production (Fluharty *et al.*, 2017).The activities of ruminal protozoa contribute significantly to the digestion of plant cell wall polymers and their absence from the rumen may have a negative effect on the extent of fiber digestion. Fiber-degrading enzymes include total cellulase activity, carboxymethylcellulase, and microcrystalline cellulase. The activity of these enzymes is in three separate parts of the rumen contents, including tiny particles (microbes attached to the rumen particle), intracellular part (cells that are freely suspended in the liquid part of the ruminal fluid) and extracellular part (enzymes in the liquid part) are measured (Agarwal *et al.*, 2000). The aim of this study was to investigate the effect of alfalfa physical shape and barley grain processing on nitrogen retention, activity of enzyme cellulolytic, blood parameters and rumen microbial population in Dalagh breed fattening lambs.

Materials and Methods: Thirty male lambs with an approximate age of 3.5±1.2 months with an average weight of 17 ± 1.1 kg were used. The experiment was statistically analyzed in the form of a factorial experiment based on a completely randomized design with two factors. The experimental variables include: physical form of forage (chopped vs. pelleted form) and barley grain processing

1- Ph.D. Student, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
2 and 3- Professor and Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
4- Assistant Professor, Gorgan Agricultural Jihad Research Center, Iran.
5- Associated Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.
*Corresponding Author's Email: ghoorchit@yahoo.com

(whole vs. grounded vs. steam flaked). The experiment was performed in the 98 days (14 days of habituation and 84 days of the main course) with 6 treatments and 5 replications. Experimental diets were equal in protein and energy content and includes: 1- Pelleted alfalfa with whole barley grain 2- Pelleted alfalfa with ground barley grain 3- Pelleted alfalfa with flaked barley grain 4- Alfalfa with whole barley grain 5-Alfalfa with ground barley grain 6 -Alfalfa with flaked barley grain. Rumen fluid was sampled on day 84 at 3 hours after feeding and blood samples were taken from the lambs in the penultimate week of the fattening period 3 hours after morning feeding from the cervical vein.

Results and Discussion: Nitrogen consumption and fecal extracted nitrogen in lambs feces were significantly affected by the physical shape of the forage, which nitrogen consumption and fecal nitrogen excretion in lambs fed with pelleted alfalfa compared to chopped alfalfa were increased ($P<0.05$). The processing of barley grain didn't significant effect on apparent nitrogen balance parameters ($P>0.05$). The total number of rumen bacteria, lactic acid, coliform and rumen protozoa were not affected by the physical form of the forage ($P >0.05$). However, the number of total bacteria and rumen protozoa in lambs fed with flaked barley grain were higher than milled barley grain and also in milled barley grain were greater than whole barley grain ($P<0.05$). Activity of carboxymethyl cellulase and microcrystalline cellulase enzymes in intra cellular, extra cellular, solid and total rumen fluids of lambs fed pelleted alfalfa forage and flaked barley was higher than chopped alfalfa, however, there was no significant difference between treatments ($P >0.05$). The blood glucose of lambs was significantly higher in lambs fed by flaked barley than milled barley and in milled barley was higher than whole barley grain ($P<0.05$) The blood urea nitrogen of lambs was significantly lower in lambs fed by flaked barley than milled barley and in milled barley was lower than whole barley grain ($P<0.05$).

Conclusion: The results of our experiment showed that the use of pelleted alfalfa and flaked barley grain in the diet of fattening of lambs due to numerical increasing trend in digested nitrogen, statistical reducing of urea nitrogen and numerical increasing trend in total rumen bacteria and cellulase enzymes activity had the best performance of rumen, which ultimately ensures the health of livestock. For recommendation using pelleted form of forage and flaked barley grain for farmers is required more study to investigate rumen and post rumen digestion rate of nitrogen and also, the cost of processing. While the lamb performance increase compared to the cost of processing, it can be recommended to the farmer to instead of consuming alfalfa and barley grain as a traditional way, use the processed form of them to improve the efficiency of the use of nutrients and increase the performance of the animals.

Key words: Cellulolytic enzymes activity, Nitrogen balance, Pelleted alfalfa, Flaked barley grain.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران

Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۱۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص . ۱۸۳-۱۶۹

تأثیر شکل فیزیکی یونجه و فرآوری دانه جو بر ابقای نیتروژن، فعالیت آنزیم‌های سلولایتیک، فراسنجه‌های خون و جمعیت میکروبی شکمبه در بره‌های پرواری نژاد دالاق

راحله رجبی علی‌آبادی[۱]، تقی قورچی[۲*]، نورمحمد تربتی‌نژاد[۲]، عبدالحکیم توغدری[۳]، مختارمهاجر[۴]، رضا طهماسبی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۵

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر شکل فیزیکی علوفه یونجه و فرآوری دانه جو بر ابقای نیتروژن، فعالیت آنزیم‌های سلولایتیک، فراسنجه‌های خون و جمعیت میکروبی شکمبه در بره‌های پرواری نژاد دالاق از ۳۰ رأس بره نر ۱/۲±۳/۵ ماهه با میانگین وزن۱/۱±۱۷ کیلوگرم استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور اصلی شامل شکل فیزیکی علوفه (خرد شده در مقابل پلت شده) و فرآوری دانه جو (کامل، آسیاب شده و فلیک شده) که در یک دوره ۹۸ روزه (۱۴روز عادت‌پذیری و ۸۴ روز دوره اصلی) با شش تیمار و پنج تکرار انجام شد. جیره‌های آزمایشی از نظر محتوی پروتئین و انرژی برابر بودند و شامل: ۱- یونجه خرد شده با دانه کامل جو، ۲- یونجه خرد شده با دانه جو آسیاب شده، ۳- یونجه خرد شده با دانه جو فلیک شده، ۴- یونجه پلت شده با دانه کامل جو، ۵- یونجه پلت با دانه جو آسیاب شده، ۶- یونجه پلت با دانه جو فلیک شده، بودند. نمونه‌گیری از مایع شکمبه سه ساعت بعد از خوراک‌دهی و خون‌گیری در هفته ماقبل آخر دوره پرواربندی، انجام شد. یونجه پلت در مقایسه با یونجه خرد شده باعث افزایش نیتروژن مصرفی و نیتروژن هضم شده گردید ($P<0/05$)، امّا بر ابقای نیتروژن تأثیر معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). تیمار جو فلیک منجر به افزایش تعداد کل باکتری‌ها و پروتوزوآی شکمبه نسبت به دانه جو کامل و آسیاب شده شد ($P<0/05$). مقدار گلوکز خون بره‌ها به‌طور معنی‌دار در تیمار دریافت‌کننده جو فلیک شده، بیشتر از جو کامل و آسیاب شده و مقدار نیتروژن اوره‌ای خون به‌طور معنی‌دار کمتر بود ($P<0/05$). به‌طور کلی، علوفه یونجه به‌صورت پلت شده و جو به‌صورت فلیک شده، در جیره گوسفند پرواری به‌دلیل روند افزایشی در هضم نیتروژن، کاهش معنی‌دار در نیتروژن اوره‌ای خون و روند افزایشی در تعداد کل باکتری‌ها و آنزیم‌های میکروکریستالین سلولاز و کربوکسی متیل سلولاز شکمبه سبب بهبود عملکرد شکمبه و در نهایت، موجب تضمین سلامت دام می‌شود.

واژه‌های کلیدی: توازن نیتروژن، جو فلیک شده، فعالیت آنزیم‌های سلولایتیک، یونجه پلت شده.

مقدمه

علوفه‌ای که در تغذیه دام مورد استفاده قرار می‌گیرد به‌فرم سیلاژ، خرد شده و پلت می‌باشند. در صورت استفاده از جیره پلت، دام زمان کمتری را صرف غذا خوردن خواهد کرد، لذا با کاهش فعالیت، میزان احتیاجات نگهداری آن نیز کاهش خواهد یافت. بخشی از بهبود کاربرد جیره پلت، به‌علت مصرف کمتر انرژی درهنگام تغذیه می‌باشد. به عبارت دیگر، استفاده از جیره پلت، انرژی صرف شده دام برای غذا خوردن را کاهش می‌دهد و قابلیت دسترسی حیاتی مواد مغذی و انرژی را نیز افزایش می‌دهد (Fluharty *et al.*, 2017). ارزش غذایی علوفه‌های مورد استفاده در تغذیه دام توسط مجموعه عواملی شامل ترکیبات شیمیایی، ضرایب هضمی، تجزیه‌پذیری و خوش‌خوراکی مشخص می‌شود (Sufi Siavash and Janmohammadi, 2009).

۱- دانشجوی دکتری گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲ و ۳- استاد و استادیار، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۴- استادیار، مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی گرگان ایران.

۵- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

(*- نویسنده مسئول: Email: ghoorchit@yahoo.com)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.77388.1084

در سیستم پرواربندی، جو به‌عنوان یک غله بومی به‌عنوان مهم‌ترین منبع نشاسته مورد استفاده قرار می‌گیرد. بر اساس تحقیقاتی که انجام گرفته، مشخص شده است که نشاسته جو به‌سرعت در شکمبه تخمیر می‌شود، نوع فرآوری غله بر تجزیه‌پذیری آن در شکمبه و همچنین قابلیت هضم آن در دستگاه گوارش موثر می‌باشد و به عبارت دیگر، بر استفاده آن در شکمبه یا عبور آن به بخش‌های پایینی دستگاه گوارش مؤثر است (Horadagoda *et al.*, 2008).

متابولیسم نیتروژن به ترکیب جیره و گونه حیوان بستگی دارد (Woodward and Reed, 1997). بر این اساس، متخصصان تغذیه نشخوارکنندگان همواره در تلاش بوده‌اند تا با تعدیل رقابت بین جمعیت‌های مختلف میکروبی ساکن در شکمبه، بازدهی استفاده از انرژی و پروتئین را بهبود بخشند. پژوهش‌های متعددی نشان داده که فرآوری غلات بر تولید اسیدهای چرب فرار، اسیدیته شکمبه و غلظت آمونیاک شکمبه موثر است. در این ارتباط، با توجه به نوع غله و نوع فرآوری نتایج متفاوتی برای هر یک از این فراسنجه‌ها گزارش شده است. همچنین گزارش شده که غلات فرآوری شده وقتی به همراه علوفه استفاده می‌شوند، تأثیرات کمتری بر تولید اسیدهای چرب فرار و اسیدیته شکمبه دارند (Delahoy *et al.*, 2003).

شکمبه یک اکوسیستم میکروبی غیر هوازی است که توسط جمعیت پیچیده میکروبی شامل باکتری، پروتوزوآ و قارچ‌ها اشغال شده است. زمانی‌که دانه به جیره نشخوارکنندگان اضافه می‌شود، پروتوزوآی شکمبه با افزایش تعدادشان با این شرایط خود را وفق می‌دهند و به اندازه کافی نشاسته اضافی را از بین می‌برند ((Ghoorchi and Seyed Almoosavi, 2018). نوع فرآوری نقش اساسی بر استفاده باکتری‌های شکمبه از نشاسته و یا عبور نشاسته به قسمت‌های پایین‌تر دستگاه گوارش و هضم در آنجا دارد و نشخوارکنندگان برای به‌دست آوردن انرژی از مواد گیاهی به تخمیر میکروبی در شکمبه وابسته‌اند (Jouany and Ushida, 1999).

با فرض اینکه شکل فیزیکی و فرآوری خوراک بر فعالیت آنزیم-های سلولایتیک، ابقای نیتروژن، میکروب‌های شکمبه و خون تأثیر می‌گذارد. نیاز به تحقیقات دو خوراک غالب یونجه و جو در تغذیه دام ضروری به نظر رسید. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثرات شکل فیزیکی یونجه و فرآوری دانه جو بر ابقای نیتروژن، برخی از فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و فراسنجه‌های خونی در بره‌های پرواری نژاد دالاق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تمامی مراحل انجام این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی شماره یک واحد پرورش گوسفند دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و آزمایشگاه علوم دامی مرکز تحقیقات علوم دامی گرگان صورت گرفت. پلت یونجه مورد نیاز از کارخانه خوراک دام و طیور زرین دانه پویا یزد تهیه گردید و جو واریته صحرا مورد نیاز نیز از بازار خریداری و به سه قسمت جو کامل و جو آسیاب شده و جو فلیک شده، تقسیم گردید. فرمول کنسانتره متناسب با نیازهای توصیه شده در NRC (2007) برای بره‌های در حال رشد تهیه گردید و قسمت کنسانتره جیره بدون جو در کارخانه خوراک دام و طیور گرگان دشت تهیه شد و به مزرعه تحقیقاتی پرورش گوسفند دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی منتقل گردید. تنها تفاوت جیره‌ها از نظر شکل فیزیکی یونجه و نوع فرآوری دانه جو بود و اقلام تشکیل‌دهنده و درصد آن در جیره کاملاً یکسان بود (جدول ۱). پلت کردن یونجه با استفاده از دستگاه پرس پلت کارخانه خوراک دام و طیور انجام شد. برای اینکار یونجه کامل کوبیده شده تا از الک پنج میلی‌متری عبور کند و با افزودن یک درصد بنتونیت جهت چسبندگی و مقدار کمی بخار در کاندیشن پخت شده و با دستگاه پرس پلت با دای سه میلی‌متری عملیات پلت‌سازی انجام شد و در نهایت، با دستگاه کولر خنک شد. جهت آسیاب کردن دانه جو از آسیاب با توری دو میلی‌متری استفاده شد. فلیک کردن (پولکی‌کردن) دانه جو با بخار ابتدا دانه جو در داخل محفظه‌ای عمودی برای پخت در معرض بخار به‌مدت چهار دقیقه قرار گرفت تا رطوبت آن به حدود ۲۰ درصد برسد، بلافاصله از بین غلطک‌هایی که از هم ۱/۵ میلی‌متر فاصله و در حال گردش عبور داده شد. دمای پخت ۹۰ درجه سانتی‌گراد و فشار پنج بار بود. آزمایش در دوره ۹۸ روزه (۱۴روز عادت‌پذیری و ۸۴ روز دوره اصلی) با شش تیمار و پنج تکرار انجام شد که جیره‌های آزمایشی از نظر محتوی پروتئین و انرژی برابر بودند و شامل: ۱- یونجه خرد شده با دانه کامل جو، ۲- یونجه خرد شده با دانه جو آسیاب شده، ۳- یونجه خرد شده با دانه جو فلیک شده، ۴- یونجه پلت شده با دانه کامل جو، ۵- یونجه پلت با دانه جو آسیاب شده، ۶- یونجه پلت با دانه جو فلیک شده، بودند. به منظور انجام این آزمایش، در ماه اسفند سال ۱۳۹۸ تعداد ۳۰ رأس بره نر نژاد دالاق با میانگین وزن زنده ۱/۱±۱۷ کیلوگرم و سن ۳-۴ ماه از مزرعه دامی زیر نظر جهاد کشاورزی استان گلستان انتخاب شدند و به مزرعه آموزشی- پژوهشی شماره یک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند.

تعادل نیتروژن برای هر دام از اختلاف نیتروژن مصرفی و دفعی در هر روز به‌دست آمد، بدین صورت که نیتروژن مصرفی از اختلاف نیتروژن خوراک داده شده و باقی‌مانده آخور هر دام تصحیح شد. نیتروژن دفعی نیز از مجموع نیتروژن دفعی مدفوع و دفعی ادرار محاسبه گردید. معادله مورد استفاده در محاسبه ابقای نیتروژن در ذیل آورده شده است (Asadi *et al.*, 2018).

جدول ۱ – اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده (بر حسب درصد ماده خشک یا واحدهای ارائه شده)

Table 1- Feed ingredients and chemical composition of experimental diets (% of dry matter or unit provided)

جیره‌های آزمایشی Experimental diet's	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments					
	یونجه خرد شده، جو کامل Alfalfa-whole barley	یونجه خرد شده، جو آسیاب Alfalfa-ground barley	یونجه خرد شده، جوفلیک شده Alfalfa-Flaked barley	یونجه پلت، جو کامل Pellet alfalfa-whole barley	یونجه پلت، جو آسیاب Pellet alfalfa-ground barley	یونجه پلت، جو فلیک شده Pellet alfalfa-flaked barley
یونجه خرد شده Chopped alfalfa	25.0	25.0	25.0			
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa				25.0	25.0	25.0
دانه جو کامل Whole barely grain	56.5			56.5		
دانه جو آسیاب شده Milled barley grain		56.5			56.5	
دانه جو فلیک شده Flaked barley grain			56.5			56.5
سبوس گندم Wheat bran	11.3	11.3	11.3	11.3	11.3	11.3
کنجاله سویا Soybean meal	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
کلرید آمونیوم Amoniom colorid	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
پودر صدف Oyster shell	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
نمک Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0/5
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
مکمل مواد معدنی- ویتامین* Minerals and vitamins premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

ترکیب شیمیایی
Chemical composition

انرژی قابل متابولیسم، مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک Metabolizable energy (Mcal/kgDM)	2.62	فسفر Phosphorus	0.35
پروتئین خام Crude protein	14.91	فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	30.82
عصاره اتری Ether extract	1.2	فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	14.08
کلسیم Calcium	0.92	فیبرخام Crude fiber	4.63

* مکمل ویتامین و معدنی شامل ویتامین A ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D3 ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی، منیـزیم ۳۲۰۰۰ میلـی‌گـرم، منگنـز ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم، روی ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم، مس ۳۰۰ میلی‌گرم، سلنیوم ۱۰۰ میلی‌گرم، ید ۱۰۰ میلی‌گرم، آهن ۳۰۰۰ میلی‌گرم، کبالت ۱۰۰ میلی‌گرم، فسفر ۳۰۰۰۰ میلی‌گرم، مونسین ۱۵۰۰ میلی‌گـرم، آنتی‌اکسیدان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد.

Contained per kilogram of supplement: 1000,000 IU vitamin A 250,000 IU vitamin D3, 3,000 IU vitamin E, 110 g Ca, 45 g Mg, 10000 mg Mn, 10000 mg Zn, 300 mg Cu, 100 mg Se, 100 mg I, 3000 mg Fe, 100 mg Co, 30000 Mg P, 11500 Mg Mo, and 100Mg antioxidant.

در نهایت، تعادل نیتروژن هر تیمار از میانگین‌گیری تعادل نیتروژن دام‌های همان تیمار در هفت روز دوره جمع‌آوری به_دست

آمد.

در معادله‌های زیر تمامی واحدها (گرم/روز) می‌باشد.

نیتروژن باقی مانده آخور–نیتروژن خوراک داده شده=نیتروژن مصرفی

نیتروژن دفعی ادرار + نیتروژن دفع شده از مدفوع = نیتروژن دفع شده

نیتروژن دفع شده – نیتروژن مصرفی = تعادل نیتروژن

نیتروژن هضم شده[1]= قابلیت هضم پروتئین خام × نیتروژن مصرفی

(نیتروژن ادرار + نیتروژن مدفوع)– نیتروژن مصرفی= ابقای نیتروژن

برای شمارش پروتوزوآها، در هفته آخر و در زمان سه ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح، نمونه مایع شکمبه با استفاده از لوله مری از گوسفندان گرفته شد. مایع شکمبه صاف شده با استفاده از فرمالین سه درصد فیکس شد و سپس تعداد پروتوزوآها در زیر میکروسکوپ شمارش شد (Dehority, 1984). و تعداد پروتوزوآها در هر میلی‌لیتر مایع شکمبه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{تعداد سلول در هر میلی‌لیتر} = \frac{n1+n2}{2} \times 1000 \times d$$

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیّت آنزیم‌های سلولیتیک شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز نمونه‌های شیرابه شکمبه توسط لوله مری سه ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح از دام‌ها در آخرین روز دوره آزمایش جمع‌آوری و بلافاصله توسط یک فلاسک عایق با دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه تغذیه دانشکده علوم دامی دانشگاه منابع طبیعی و کشاورزی گرگان انتقال داده شدند.

بخش‌بندی شیرابه شکمبه: به‌منظور بخش‌بندی آنزیم‌های مورد بررسی در شیرابه شکمبه به سه بخش جامد[2]، خارج سلولی[3] و درون سلولی[4]، ابتدا شیرابه (حدود ۵۳ میلی‌لیتر) توسط دو لایه پارچه صاف گردید و مواد باقی‌مانده روی پارچه به‌عنوان بخش جامد در نظر گرفته شد. برای جداسازی بخش‌های پروتوزوایی و باکتریایی، ابتدا شیرابه با دور ۴۵۰×g به‌مدت پنج دقیقه در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به‌دست آمده به‌عنوان بخش پروتوزوایی در نظر گرفته شد. مایع‌شفاف رویی (سوپرناتانت) مجدداً با دور ۲۷۰۰۰ ×g به مدت ۲۳ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پلت به‌دست آمده در این مرحله به‌عنوان بخش باکتریایی مشخص شد. در نهایت، مایع شفاف رویی به‌عنوان منبع آنزیم‌های خارج سلولی مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).

استخراج آنزیم‌ها از بخش‌های مختلف و تخمین فعالیّت آنزیمی: آنزیم‌های شکمبه‌ای مورد آزمایش در بخش‌های مختلف شیرابه شکمبه طبق روش هریستو و همکاران استخراج گردید (Hristov *et al.*, 1999). محاسبه فعالیّت آنزیمی: فعالیت آنزیم‌های سلولیتیک در هر حیوان در هر یک از سه بخش شیرابه شکمبه محاسبه گردید. گلوکز آزاد شده در اثر فعالیّت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون بر اساس روش میلر (Miller *et al.*, 1959) تخمین زده شد. فعالیت آنزیمی نمونه‌ها بر حسب نانومول در دقیقه در میلی‌لیتر قندهای آزاد شده (گلوکز) و به کمک منحنی استاندارد تعیین گردید (; Dousti *et al.*, 2018, Agarwal, 2000).

جهت بررسی اثرات احتمالی جیره‌های آزمایشی بر روی فراسنجه‌های خونی دام‌ها، در هفته ماقبل آخر دوره پرواربندی، از دام‌ها سه ساعت پس از تغذیه صبح از سیاهرگ گردنی (وداج) نمونه خون گرفته شد. عمل خون‌گیری با استفاده از لوله‌های ونوجکت صورت گرفت و خون گرفته شده بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد و نمونه‌ها به‌منظور جداسازی پلاسما در ۳۰۰۰ دور به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و تا روز آزمایش در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Asadi *et al.*, 2018). در نهایت، گلوکز، اوره، تری‌گلیسیرید، کلسترول و نیتروژن اوره‌ای خون با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدلBrite 600 plus) و به‌وسیله کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون تعیین گردید.

داده‌های آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور اصلی شامل شکل فیزیکی علوفه (خرد شده در مقابل پلت شده) و فرآوری دانه جو (کامل، آسیاب شده و فلیک شده) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مدل آنالیز آماری طرح به شرح زیر است:

$$Yijk = \mu + Ti + Pj + TPij + eijk$$

که در این معادله، Yijk: فراسنجه مورد اندازه‌گیری، μ: میانگین کل، Ti: اثر شکل فیزیکی، Pj: اثر فرآوری، TPij: اثر متقابل i امین تیمار و j امین تکرار، eijk: خطای تصادفی می‌باشند.

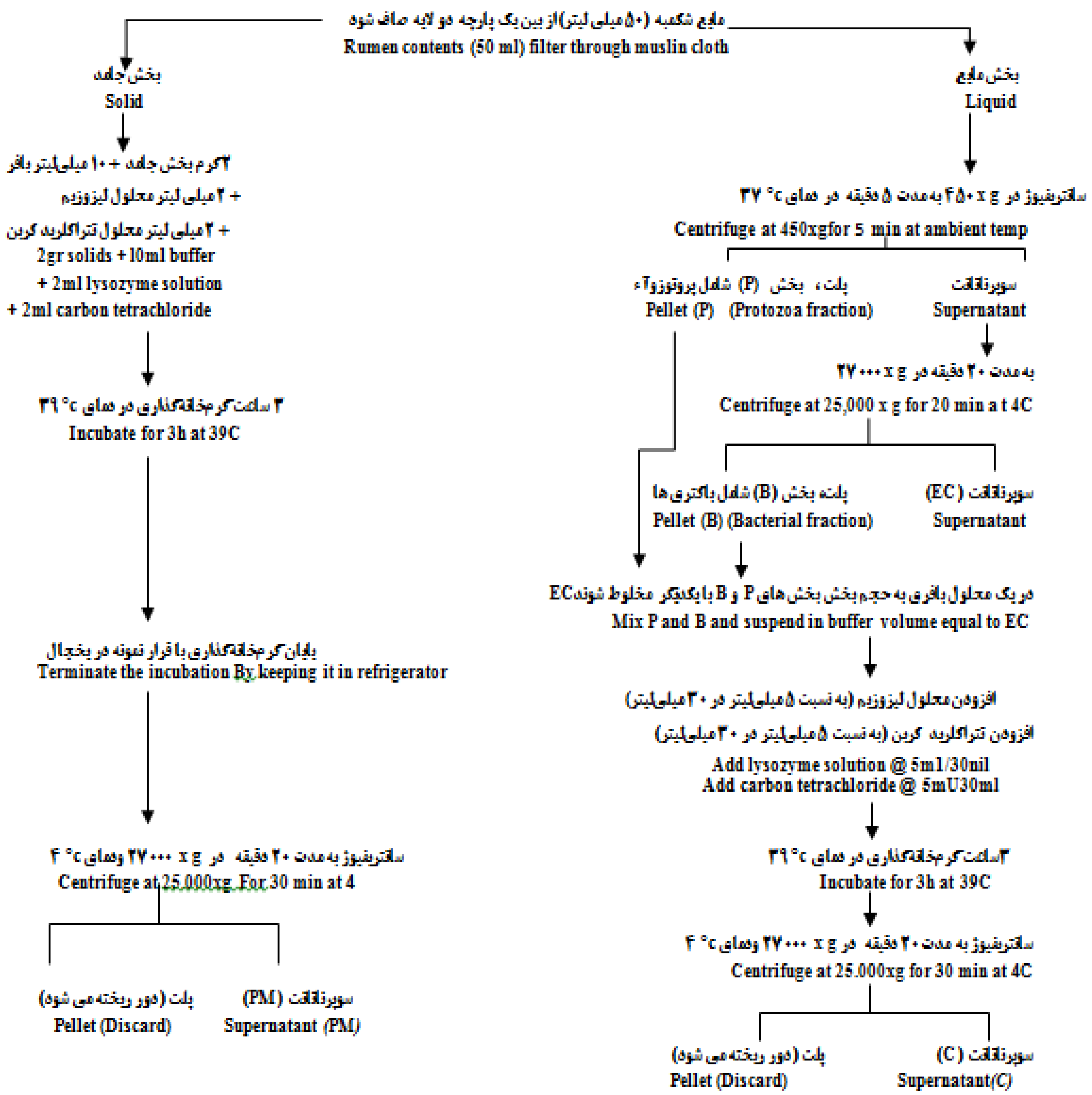
داده‌های تکرار شونده با رویه MIXED و سایر داده‌ها با رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. میانگین تیمارها توسط آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

جدول ۲ تأثیر شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله بر توازن ظاهری نیتروژن (نیتروژن مصرفی، نیتروژن دفعی ادرار، نیتروژن دفعی مدفوع، کل نیتروژن دفعی، نیتروژن ابقا شده و نیتروژن هضم شده) در جیره‌های آزمایشی بره‌ها را نشان می‌دهد. نیتروژن مصرفی و نیتروژن دفعی مدفوع بره‌ها به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر شکل فیزیکی علوفه قرار گرفت، به‌نحوی‌که یونجه پلت شده نسبت به یونجه خرد شده باعث افزایش نیتروژن مصرفی و نیتروژن دفعی مدفوع بره‌ها شد

1- Nitrogen digested
2- Particulate material
3- Extracellular
4- Cellular

.(P<۰/۰۵)



شکل ۱– بخش‌بندی شیرابه شکمبه و استخراج آنزیم‌های هیدرولیتیک، برگرفته از آگاروال (۲۰۰۰)، PM، میکروب‌های چسبیده به مواد خوراکی در شکمبه؛ EC، بخش خارج سلولی(شیرابه شکمبه)؛ C، بخش درون سلولی (میکروب‌های معلق در مایع شکمبه) (Agarwal, 2000 Dousti *et al.*,2018).

Figure 1- Fractionation of rumen contents and extraction of hydrolytic enzymes, Agarwal (2000),PM = Particulate Material, EC= Extracellular, C= Cellular

امّا در مقدار بقیه خصوصیات توازن ظاهری نیتروژن برەها تفاوت معنی‌داری در اثر شکل فیزیکی علوفه حاصل نشد (P>۰/۰۵). جو فلیک شده، نیز باعث افزایش مقدار تمامی خصوصیات اندازه‌گیری توازن ظاهری نیتروژن (نیتروژن مصرفی، نیتروژن دفعی ادرار، نیتروژن دفعی مدفوع، کل نیتروژن دفعی، نیتروژن ابقا شده، نیتروژن هضم شده) نسبت به جو آردی و جو کامل شد، امّا این افزایش معنی دار نبود (P>۰/۰۵)، بنابراین نوع فرآوری غله تأثیر معنی‌داری بر توازن ظاهری نیتروژن نداشت. اثر متقابل شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله تأثیر معنی‌دار بر روی هیچ کدام از خصوصیات توازن ظاهری نیتروژن نداشت (P>۰/۰۵).

استفاده از نیتروژن خوراک به‌وسیله ریزجانداران شکمبه نه تنها به سرعت و نرخ شکسته شدن منابع نیتروژنی وابسته است، بلکه قابلیت استفاده از منابع انرژی قابل تخمیر شکمبه‌ای جیره نیز بر سنتز پروتئین میکروبی مؤثر است (Ghoorchi and Seyed Almoosavi, 2018).

در این پژوهش، یونجه پلت شده نسبت به یونجه خرد شده باعث افزایش معنی‌دار نیتروژن مصرفی و نیتروژن دفعی مدفوع گردید (P<۰/۰۵) که می‌توان نیتروژن مصرفی بالاتر در گوسفندان مصرف‌کننده یونجه پلت نسبت به یونجه خرد شده را به مصرف ماده خشک بالاتر در این گوسفندان نسبت داد. نیتروژن دفعی مدفوع به موازات افزایش مصرف ماده خشک و نیتروژن تغییر کرد. گوسفندان تغذیه شده با جیره حاوی یونجه پلت که بالاترین مصرف ماده خشک و نیتروژن را داشته، دارای بیشترین دفع نیتروژن از طریق مدفوع بودند. نیتروژن دفعی مدفوع از بدن گوسفندان تحت تاثیر نیتروژن مصرفی می‌باشد. بدیهی است با افزایش ماده خشک مصرفی، ماده آلی قابل هضم مصرفی نیز افزایش می‌یابد (Kiran and Mutsvangwa, 2007)). در پژوهشی اثر شکل فیزیکی خوراک در جیره‌های با و بدون کود بستر جوجه‌های گوشتی بر عملکرد بره‌های پرواری مورد بررسی قرار گرفت، بلوک کردن جیره‌ها تأثیری معنی‌داری روی هیچ یک از پارامترهای تعادل نیتروژن (نیتروژن مصرفی، نیتروژن دفعی مدفوع، نیتروژن دفع شده از ادرار، کل نیتروژن دفع شده و نیتروژن ابقا شده) نداشت (Mir Mohammadi, 2013). که با نتایج این پژوهش مغایرت دارد، دلیل احتمالی تحت تأثیر قرار نگرفتن در این تحقیق را می‌توان به مصرف تقریباً یکسان ماده خشک در تیمارهای مختلف نسبت داد.

در پژوهشی با بررسی نوع فرآوری دانه جو بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی گزارش کردند که مصرف نیتروژن، نیتروژن دفعی مدفوع، نیتروژن دفعی ادرار، نیتروژن هضم شده، نیتروژن ابقا شده (گرم در روز) و درصد نیتروژن ابقا شده در گوسفندان تحت تأثیر فرآوری دانه قرار نگرفتند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Masumimoghadam *et al*., 2015) همچنین در سال ۲۰۰۷ با فرآوری دانه جو به‌صورت فلیک شده و پرک در جیره بره‌های پرواری گزارش کردند که فرآوری دانه جو هیچگونه تأثیر معنی‌داری بر ابقای ظاهری نیتروژن نداشت که با نتایج این پژوهش سازگاری دارد (Kiran and Mutsvangwa, 2007).

جدول ۳ نتایج تأثیر شکل فیزیکی علوفه و فرآوری غله بر تعداد پروتوزوا و جمعیت میکروبی شکمبه ($\times10^4$ /mL) (کل باکتری‌ها، اسید لاکتیک و کلی فرم) بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی را بیان می‌کند. شکل فیزیکی علوفه نتوانست باعث تغییر معنی‌دار در تعداد کل باکتری‌های شکمبه، اسیدلاکتیک، کلی فرم و پروتوزوآ شکمبه شود. تیمارهای مختلف نوع فرآوری جو تعداد کل باکتری‌ها و پروتوزوآ شکمبه را به‌طور معنی‌دار تغییر دادند (P<۰/۰۵) و در تیمار جو فلیک شده، تعداد کل باکتری‌ها و پروتوزوآ شکمبه بیشتر از دو تیمار دیگر بود. تعداد کل باکتری‌ها و پروتوزوآ شکمبه در تیمار جو فلیک شده >جو آردی>جو کامل بود.. تفاوتی در تعداد اسیدلاکتیک و کلی فرم شکمبه بره‌ها در اثر نوع فرآوری غله به‌طور معنی‌دار ایجاد نشد. تعداد کل باکتری‌ها، اسیدلاکتیک، کلی فرم و پروتوزوآ شکمبه بره‌ها به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر اثر متقابل شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله قرار نگرفتند.

شکمبه یک اکوسیستم میکروبی غیرهوازی است که توسط جمعیت پیچیده میکروبی شامل باکتری، پروتوزوآ و قارچ‌ها اشغال شده است (Martinez *et al*., 2010). ثابت شده است که میزان زیادی از فعالیت فیبرولایتیکی شکمبه توسط پروتوزوآ انجام می‌شود و حذف پروتوزوآی مژکدار از شکمبه باعث کاهش قابلیت هضم سلولز می شود. پروتوزوآ با بلعیدن گرانول‌های نشاسته نرخ تجزیه پذیری نشاسته را در شکمبه کاهش می‌دهند و این امر فرآیند تخمیر شکمبه‌ای را کاهش داده که به سبب آن از افت شدید پی‌اچ شکمبه ممانعت می‌شود. در مجموع، پروتوزوآها در شکمبه موجب بهبود شرایط تخمیر و کنترل جمعیت باکتریایی شکمبه می‌شوند، باکتری‌ها به تغییرات پی‌اچ شکمبه حساس هستند، امّا نسبت به پروتوزواها حساسیت کمتری دارند (Ghoorchi and Seyed Almoosavi, 2018).

در پژوهشی تأثیر دو شکل فیزیکی پلت و آسیاب جیره را بر پارامترهای شکمبه‌ای بره‌های پرواری دالاق بررسی کردند. آن‌ها تعداد کل باکتری‌ها، کلی‌فرم و پروتوزوآ را اندازه گرفتند و تفاوت معنی‌داری بین جیره پلت و آسیاب شده مشاهده نکردند که موافق با نتایج در پژوهش حاضر می‌باشد (Asadi *et al*., 2018). در پژوهشی تحت عنوان تأثیر شکل فیزیکی جیره بر قابلیت هضم مواد مغذی، تخمیر شکمبه، نشخوار، عملکرد رشد و جمعیت پروتوزوآ در بره‌های در حال رشد گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری در جمعیت پروتوزوایی شکمبه در بره‌های پرواری دریافت‌کننده جیره پلت و آردی وجود نداشت (Karimizadeh *et al*., 2017).

در پژوهشی با بررسی اثر فرآوری گندم بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای گزارش شد که تیمارهای آسیاب شده نسبت به تیمارهای بدون فراوری به‌شکل موثرتری منجر به افزایش جمعیت پروتوزآ شد (Valizadeh Ghalebeig *et al*., 2018) که همسو با نتایج پژوهش ما می‌باشد. بالاتر بودن جمعیت کل باکتری‌ها و پروتوزا در جو فلیک شده، نسبت به آسیاب می‌تواند به این علت باشد که افزایش ماندگاری در شکمبه و کند کردن نرخ تخمیر و مصرف محصولات تخمیری توسط ریزجانداران نسبت داده شود سبب پایداری محیط شکمبه و حداکثر رشد میکروبی در این تیمارها می‌شود (Valizadeh Ghalebeig *et al*., 2018).

جدول ۲- تأثیر شکل فیزیکی علوفه و فرآوری غله بر توازن ظاهری نیتروژن (گرم در روز) در جیره‌های آزمایشی

Table2- The effect of physical form of forage and grain processing on apparent nitrogen balance (g/day) in experimental diets

تیمارها Treatments	مصرف نیتروژن Nitrogen consumption	نیتروژن دفعی ادراری Urine excreted nitrogen	نیتروژن مدفوع Fecal excreted nitrogen	کل نیتروژن دفعی Total excreted nitrogen	نیتروژن ابقا شده Retained nitrogen	نیتروژن هضم شده Digested nitrogen
شکل فیزیکی Physical shape						
یونجه خرد شده Chopped alfalfa	33.08[b]	5.83	7.56[b]	13.38	19.69	20.27
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa	35.37[a]	6.77	8.57[a]	15.35	20.01	22.64
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.082	0.070	0.072	0.098	0.124	0.056
سطح معنی‌داری P value	0.041	0.85	0.041	0.77	0.83	0.69
نوع فرآوری Type of processing						
جو سالم Whole barley grain	33.84	5.99	7.80	13.48	20.05	20.96
جوآردی Milled barley grain	34.04	6.11	7.86	13.97	20.06	21.43
جو فلیک شده Flaked barley grain	34.79	6.45	8.21	14.66	20.13	22.25
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.100	0.086	0.089	0.120	0.152	0.069
سطح معنی‌داری P value	0.99	0.68	0.75	0.54	0.63	0.82
اثر متقابل شکل فیزیکی × نوع فرآوری Interaction physical shape × type of processing						
یونجه خرد شده × جوسالم Chopped alfalfa × whole barley grain	32.81	5.28	7.24	12.53	20.28	19.91
یونجه خرد شده × جوآردی Chopped alfalfa × milled barley grain	32.99	5.41	7.35	12.76	20.23	20.14
یونجه خرد شده × جو فلیک شده Chopped alfalfa × flaked barley grain	33.64	5.95	7.37	13.32	20.32	20.88
یونجه پلت شده × جو سالم Pelleted alfalfa × whole barley grain	34.88	6.35	8.13	14.48	20.44	22.04
یونجه پلت شده × جوآردی Pelleted alfalfa × milled barley grain	35.08	6.48	8.14	14.62	20.46	22.76
یونجه پلت شده × جو فلیک شده Pelleted alfalfa × flaked barley grain	36.14	6.95	8.33	15.28	20.86	23.79
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.141	0.121	0.126	0.169	0.216	0.098
سطح معنی‌داری P value	0.064	0.542	0.073	0.061	0.668	0.446

[a] و [b] حروف غیرمتشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی هستند (P<۰/۰۵).

[a, b] Different letters in columns represent significant differences between the experimental groups ($P < 0.05$).

جدول ۳– تأثیر شکل فیزیکی علوفه و فرآوری غله بر تعداد پروتوزوآ و جمعیت میکروبی شکمبه (×۱۰۴ / mL)

Table 3- The effect of physical form of forage and grain processing on the number of protozoa and rumen microbial population (×10^4 /mL)

تیمارها Treatments	کل باکتری‌ها Total bacteria	اسیدلاکتیک Lactic acid	کلی‌فرم Coliform	تک‌یاخته‌ها Protozoa
شکل فیزیکی Physical shape				
یونجه خرد شده Chopped alfalfa	10.18	8.25	5.90	9.21
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa	10.54	8.58	6.13	9.60
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.017	0.015	0.013	0.016
سطح معنی‌داری P value	0.618	0.258	0.075	0.885
نوع فرآوری Type of processing				
جو سالم Whole barley grain	10.23[c]	8.28	5.95	9.26[c]
جوآردی Milled barley grain	10.41[b]	8.44	6.06	9.47[b]
جو فلیک شده Flaked barley grain	10.44[a]	8.52	6.05	9.50[a]
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.021	0.019	0.015	0.019
سطح معنی‌داری P value	0.0001	0.315	0.069	0.041
اثر متقابل شکل فیزیکی × نوع فرآوری Interaction physical shape × type of processing				
یونجه خرد شده × جوسالم Chopped alfalfa × whole barley grain	10.12	8.15	5.86	9.08
یونجه خرد شده × جوآردی Chopped alfalfa × milled barley grain	10.21	8.28	5.92	9.27
یونجه خرد شده × جو فلیک شده Chopped alfalfa × flaked barley grain	10.23	8.33	5.92	9.30
یونجه پلت شده× جو سالم Pelleted alfalfa × whole barley grain	10.35	8.43	6.03	9.45
یونجه پلت شده × جوآردی Pelleted alfalfa × milled barley grain	10.62	8.60	6.20	9.68
یونجه پلت شده × جو فلیک شده Pelleted alfalfa × flaked barley grain	10.65	8.71	6.17	9.70
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.030	0.026	0.022	0.028
سطح معنی‌داری P value	0.610	0.224	0.070	0.783

[a] و [b] حروف غیرمتشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی هستند (P<۰/۰۵).

[a,b] Different letters in columns represent significant differences between the experimental groups (P < 0.05).

در مطالعات مختلف چنین استنباط شده‌است که بازدهی رشد ریزجانداران عمده شکمبه‌ای به‌طور قابل ملاحظه‌ای با تغییر اسیدیته شکمبه متغیر است. باکتری‌های سلولتیک و تولیدکننده متان به سرعت به افت اسیدیته شکمبه به زیر شش حساسیت نشان می‌دهند و از بین می‌روند. همچنین پروتوزوآی شکمبه هم در اسیدیته پایین ناشی از تغذیه جیره‌های با کنسانتره بالا یا غنی از غلات از بین می‌روند (Bonhomme, 1990). بنابراین، استفاده از روش‌هایی که سبب کاهش سرعت تجزیه غلات شود فرصت کافی را به دیواره شکمبه برای جذب اسیدهای چرب فرار می‌دهد و بنابراین، از کاهش اسیدیته در شکمبه و در نتیجه، مرگ باکتری‌ها و پروتوزوآ جلوگیری می‌کند که این امر در ارتباط با نوع فرآوری مشهود بود.

نتایج حاصل از تأثیر شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله بر فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز در سه بخش داخل سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول ۴ گزارش شده است. فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با یونجه پلت بیشتر از یونجه خرد شده بود، امّا تفاوت معنی‌دار نبود. همچنین بین تیمارهای مختلف از لحاظ نوع فرآوری، فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جو فلیک شده، به‌طور غیر معنی‌دار بیشتر از بره‌های تغذیه شده با جو آردی و دانه جو بود. فعالیت آنزیم میکروکریستالین سلولاز در سه بخش سلولی، خارج سلولی، جامد و کل مایع شکمبه تحت تأثیر نوع فراوری قرار نگرفت. همچنین هیچ تفاوت معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز مایع شکمبه بره‌ها هنگام بررسی اثر متقابل بین شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

نتایج آزمایش حاضر مخالف با یافته‌های محقق دیگر در بره‌های پرواری است که فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک (شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز) در بخش جامد، درون سلولی و خارج سلولی شکمبه را اندازه‌گیری کردند و در رابطه با تأثیر عامل شکل فیزیکی در میزان فعالیت آنزیم‌های شکمبه‌ای در تغذیه بره‌های پرواری از جیره آردی و بلوک، نشان دادند که عامل شکل فیزیکی موجب کاهش معنی‌داری در فعالیت کل کربوکسی متیل سلولز شد و این گزارش با نتایج به¬دست آمده از پژوهش حاضر مغایرت دارد (Mir Mohammadi, 2013). تفاوت در نتایج به¬دست آمده در این تحقیق را می‌توان به نوع جیره و شرایط نگهداری دام و مدیریت متفاوت (Camra *et al.*, 2010) و همچنین زمان نمونه‌گیری از مایع شکمبه (Leedle *et al.*, 1986) نسبت داد به عبارت دیگر، نوع جیره تغذیه شده به حیوانات، باعث تغییر جمعیت میکروبی و متعاقب آن تغییر در الگوی آنزیمی شده است.

کاظمی (Kazemi, 2017) با بررسی اثر فرآوری ذرت بر فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک (شامل میکروکریستالین سلولاز،کربوکسی متیل سلولاز) در بخش جامد، درون سلولی و خارج سلولی شکمبه، هیچگونه اثر معنی‌داری بین نوع فرآوری و آنزیم‌های شکمبه گزارش نکردند که با نتایج این پژوهش سازگاری دارد.

نتایج به¬دست آمده از جدول ۵ تأثیر شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله بر فرانسجه‌های خونی (گلوگز، اوره، کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپرتئین با چگالی بالا، لیپوپرتئین با چگالی پایین) را نشان می‌دهد. مقدار گلوکز، اوره خون، کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپرتئین با چگالی بالا، لیپوپرتئین با چگالی پایین خون بره‌ها تحت تأثیر شکل فیزیکی علوفه قرار نگرفتند. امّا نوع فرآوری غله توانست فرانسجه‌های خونی را به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر قرار بدهد. مقدار گلوکز خون بره‌ها به‌طور معنی‌دار در تیمار دریافت‌کننده جو فلیک شده، بیشتر از دو تیمار دیگر بود (P<۰/۰۵). به‌طوری که در جو فلیک شده >جو آردی>جو کامل بود. مقدار اوره خون بره‌ها به‌طور معنی‌دار در تیمار دریافت‌کننده جو کامل بیشتر از دو تیمار دیگر بود (P<۰/۰۵). مقدار کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپرتئین با چگالی بالا، لیپوپرتئین با چگالی پایین خون بره‌ها تفاوت معنی‌داری در اثر دریافت سه تیمار جو فلیک شده، جو آردی و جو کامل نداشت. اثر متقابل شکل فیزیکی علوفه و نوع فراوری خوراک هیچ تأثیر معنی‌داری بر روی فراسنجه‌های خون بره‌ها نداشت.

براساس نتایج به¬دست آمده در آزمایش عباسی و همکاران (Abbasi,i et al., 2015) بین نیتروژن اوره‌ای، گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول خون گاوهای شیرده در بین دو جیره آزمایشی آردی و پلت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت که موافق با نتایج این پژوهش است. همچنین موافق با نتایج پژوهش حاضر کریمی زاده و همکاران (Karimizadeh *et al.*, 2017) در رابطه با استفاده از سه شکل فیزیکی کنسانتره (مش، پلت و بلوک) در جیره پایانی بره‌های پرواری نشان دادند کنسانتره آردی و پلت اختلاف معنی‌داری بر غلظت گلوگز و نیتروژن اوره‌ای خون، کلسترول و تری‌گلیسرید ایجاد نکرد.

جدول ٤- تأثیر شکل فیزیکی علوفه و نوع فرآوری غله بر فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز و میکروکریستالین سلولاز (میکرومول گلوکز آزاد شده در ساعت در هر میلی لیتر مایع شکمبه)

Table 4- The effect of physical form of forage and type of grain processing on the carboxymethyl cellulase and microcrystalline cellulase enzymes (micromoles of glucose released per hour per ml of ruminal fluid)

	میکروکریستالین سلولاز Microcrystalline cellulase				کربوکسی متیل سلولاز Carboxy methyl cellulase			
تیمارها Treatments	بخش سلولی Cellular part	خارج سلولی Extracellular part	بخش جامد Solid part	کل Total	بخش سلولی Cellular part	خارج سلولی Extracellular part	بخش جامد Solid part	کل Total
شکل فیزیکی Physical shape								
یونجه خرد شده Chopped alfalfa	129.05	65.02	236.24	430.33	132.49	60.84	238.07	431.42
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa	149.92	72.83	265.72	488.48	166.50	80.98	272.94	520.43
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	1.732	1.150	0.723	2.875	0.923	1.011	0.851	1.673
سطح معنی‌داری P value	0.229	0.258	0.337	0.297	0.189	0.231	0.278	0.315
نوع فرآوری Type of processing								
جو سالم Whole barley grain	140.32	65.52	238.93	444.78	152.17	66.49	244.46	463.13
جوآردی Milled barley grain	137.10	69.38	258.14	464.62	146.39	79.64	255.59	481.63
جو فلیک شده Flaked barley grain	141.05	71.88	255.88	468.81	149.91	66.63	266.48	483.02
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	2.120	1.401	0.886	3.519	1.129	1.241	1.042	2.044
سطح معنی‌داری P value	0.388	0.391	0.352	0.311	0.401	0.345	0.289	0.311
اثر متقابل شکل فیزیکی × نوع فرآوری Interaction physical shape × type of processing								
یونجه خرد شده × جوسالم Chopped alfalfa × whole barley grain	133.01	62.20	223.75	418.96	124.91	54.49	225.87	405.28
یونجه خرد شده × جوآردی Chopped alfalfa × Milled barley grain	131.56	64.90	237.82	424.28	141.39	69.23	239.36	449.98
یونجه خرد شده × جو فلیک شده Chopped alfalfa × flaked barley grain	122.60	67.98	247.16	437.75	131.17	58.83	248.99	439.00
یونجه پلت شده× جو سالم Pelleted alfalfa × whole barley grain	147.65	68.85	254.09	470.59	179.44	78.48	263.06	520.98
یونجه پلت شده × جوآردی Pelleted alfalfa × Milled barley grain	142.65	73.86	287.47	494.97	151.40	90.04	271.82	513.27
یونجه پلت شده × جو فلیک شده Pelleted alfalfa × flaked barley grain	159.49	75.78	264.59	499.88	168.65	74.46	283.96	527.04
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	2.996	1.985	1.253	4.977	1.594	1.754	1.475	2.890
سطح معنی‌داری P value	0.915	0.845	0.626	0.529	0.385	0.521	0.295	0.289

a و b حروف غیرمتشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی هستند (P<۰/۰۵).

[a,b] Different letters in columns represent significant differences between the experimental groups (P<0.05).

جدول ۵- تأثیر شکل فیزیکی علوفه و فرآوری غله بر فرانسجه‌های خونی (میلی‌گرم بر دسی لیتر)

Table 5- The effect of physical form of forage and grain processing on blood parameters (mg/dl)

تیمارها Treatments	گلوکز Glucose	اوره Urea	کلسترول Cholesterol	تری گلیسیرید Triglyceride	لیپوپرتئین با چگالی بالا HDL	لیپوپرتئین با چگالی پایین LDL
شکل فیزیکی Physical shape						
یونجه خرد شده Chopped alfalfa	67.81	14.69	76.39	20.52	65.91	24.54
یونجه پلت شده Pelleted alfalfa	76.31	11.49	78.85	23.54	71.56	27.51
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.234	0.879	0.091	0.093	0.159	0.071
سطح معنی‌داری P value	0.399	0.449	0.230	0.420	0.071	0.685
نوع فرآوری Type of processing						
جو سالم whole barley grain	69.22[c]	14.20[a]	76.95	21.09	66.67	25.06
جو آردی Milled barley grain	72.89[b]	12.86[b]	77.26	22.02	69.21	25.96
جو فلیک شده Flaked barley grain	74.06[a]	12.21[c]	78.65	22.97	70.32	27.04
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.286	0.107	0.112	0.115	0.194	0.088
سطح معنی‌داری P value	0.008	0.045	0.185	0.350	0.068	0.650
اثر متقابل شکل فیزیکی × نوع فرآوری Interaction physical shape × type of processing						
یونجه خرد شده × جوسالم Chopped alfalfa ×whole barley grain	66.26	15.88	75.72	19.69	64.64	23.64
یونجه خرد شده × جوآردی Chopped alfalfa × milled barley grain	68.66	14.21	76.16	20.51	66.05	24.42
یونجه خرد شده × جو فلیک شده Chopped alfalfa × flaked barley grain	68.52	13.98	77.29	21.35	67.03	25.54
یونجه پلت شده × جو سالم Pelleted alfalfa × whole barley grain	72.19	12.52	78.19	22.48	68.70	26.48
یونجه پلت شده × جوآردی Pelleted alfalfa × milled barley grain	77.12	11.51	78.36	23.54	72.38	27.51
یونجه پلت شده × جو فلیک شده flaked barley grain × pelleted alfalfa	79.62	10.44	80.01	24.59	73.59	28.53
انحراف استاندارد میانگین‌ها SEM	0.405	0.152	0.158	0.162	0.275	0.124
سطح معنی‌داری P value	0.069	0.056	0.276	0.389	0.062	0.619

[a] و [b] حروف غیرمتشابه در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی هستند (P<۰/۰۵).

[a,b] Different letters in columns represent significant differences between the experimental groups (P < 0.05).

کاظمی (Kazemi, 2017) با بررسی تأثیر فرآوری‌های فیزیکی دانه ذرت بر گلوکز مغایر با نتایج این پژوهش تفاوت معنی‌داری مشاهده نکرد؛ علت را می‌توان در نوع غله مصرفی، نوع فرآوری، میزان کنسانتره، مصرف همزمان چند نوع غله و سطوح غله مصرفی

جیره دانست. نتایج این پژوهش بیانگر عدم تأثیر معنی‌دار فرآوری‌های جو بر روی اوره خون، کلسترول و تری‌گلیسیرید خون بره‌های پرواری بود، که با نتایج بررسی کاظمی (Kazemi, 2017) در ارتباط با تأثیر فرآوری‌های فیزیکی دانه ذرت در بره‌های افشاری مطابقت داشت. همچنین با فرآوری دانه جو به دو صورت فلیک شده، و آسیاب شده گزارش کردند که فرآوری به‌صورت فلیک شده، باعث کاهش گلوکز خون گردید، امّا این کاهش معنی‌دار نبود که بانتایج این پژوهش مطابقت ندارد (Babaei *et al.*, 2015).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از آزمایش حاضر نشان می‌دهد که به‌کار بردن علوفه یونجه به‌صورت پلت شده و جو به‌صورت فلیک شده، در جیره گوسفند پرواری به‌دلیل روند افزایشی در هضم نیتروژن، کاهش معنی‌دار در نیتروژن اوره‌ای خون و روند افزایشی در تعداد کل باکتری‌ها و آنزیم‌های میکروکریستالین سلولاز و کربوکسی متیل سلولاز شکمبه سبب بهبود عملکرد شکمبه و در نهایت، موجب تضمین سلامت دام می‌شود.

References

1. Abbasi, M., Bashtani, M., Foroughi, A., Ganji, F., & Farhangfar, H. (2016). Comparison of flour and pellet concentrate on lactation performance, nutritional behaviors and some blood metabolites in lactating cows. *Journal of Animal Science Research*, *26*(3),162-151. (In Persian).
2. Agarwal, N., Agarwal, I., Kamra, D. N., & Chaudhary, L. C. (2000). Diurnal variations in the activities of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen contents of Murrah buffalo. *Journal of Applied Animal Research*, *18*,73-80. DOI: https://doi.org/10.1080/09712119.2000.9706325
3. Asadi, M., Toghdory, A., Ghoorchi, T., & Kargar, S. (2018). Effect of physical form of the concentrate and buffer type on the rumen and blood parameters and microbial protein synthesis in fattening Dalagh lamb. *Animal Science Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, *122*,143-158. (In Persian). DOI: https://doi.org/10.22069/ejrr.2018.14976.1632
4. Babaei, M., Chashnidel, Y., & Dirande, A. (2015). Effect of cobalt and barley grain processing on yield, nutrient digestibility and ruminal and blood parameters in fattening stages. *Journal of Animal Science Research*, 1-13. (In Persian). DOI: https://doi.org/20.1001.1.22520872.1395.5.1.1.1
5. Bonhomme, A. (1990). Rumen ciliates: Their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, *30*(3-4):203-266. DOI: https://doi.org/10.1016/0377-8401(90)90016-2
6. Dehority, B.A. (1984). Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, *48*(1):182-185. DOI: https://doi.org/10.1128/aem.48.1.182-185.1984
7. Delahoy, J. E., Muller, L. D., Bargo, F., Cassidy, T. W., & Holden, L. A. (2003). Supplemental carbohydrates sources for lactating dairy cows on pasture. *Journal* of Dairy Science, 86:906- 915. DOI: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73673-X
8. Dousti, F., Ghoorchi, T., Sepahvand, A., Dastar, B., & Azarfar, A. (2018). The effect of different levels olive cake in fermentation parameters, enzyme cellulytic and the rumen microbial protein production Lory male Lambs. *Irianian Journal of Animal Science Research*, *9*(4):424-436. (In Persian). DOI: https://doi.org/10.22067/ijasr.v9i4.56420
9. Fluharty, F. L., Zerby, H. N., Lowe1, G. D., Clevenger, D. D., & Relling, A. E. (2017). Review of Effects of feeding corn silage, pelleted, ensiled, or pelleted and ensiled alfalfa on growth and carcass characteristics of lamb. *South African Journal of Animal Science*, *47*:5-19. DOI: http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v47i5.14
10. Ghoorchi, T., & Seyed Almoosavi, S. M. M. (2018). Ruminant Nutrition Principles. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Publications, Iran. 310 pp. (In Persian).
11. Horadagoda, A., Fulkerson, W., Barchia, I., Dobos, R., & Nandra, K. (2008). The effect of grain species, processing and time of feeding on the efficiency of feed utilization and microbial protein synthesis in sheep. Journal of Livestock Science,114:117–126. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2007.04.016
12. Hristov, A. N., McAllister, T. A., & Cheng, K. J. (1999). Effect of diet, digesta processing, freezing and extraction procedure on some polysaccharide degrading activities of ruminal contents. Canadian Journal of Animal Science, 79: 73-81. DOI: https://doi.org/10.4141/A98-056
13. Jouany, J. P. & Ushida, K. (1999). The role of protozoa in feed digestion. Asian- Australian Journal of Animal Science, 12:113- 128. DOI: https://doi.org/10.5713/ajas.1999.113
14. Karimizadeh, E., Chaji, M., & Mohammadabadi, T. (2017). The effects of journal physical form of diet on nutrient digestibility. Rumen fermentation, rumination, growth performance and protozoa population of finishing lambs. *Journal of Animal Nutrition*, *3*(2):139-144. DOI: https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.01.004
15. Kazemi, F. (2017). The effect of barley replacement with processed corn on growth performance, dry matter digestibility, ruminal and blood parameters, microbial population, microbial protein, cellulase enzyme activity and economic profitability of Afshari lamb. Ph.D Thesis. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. (In Persian).

16. Kiran, D., & Mutsvangwa,T. (2007). Effects of barley grain processing and dietary ruminally degradable protein on urea nitrogen recycling and nitrogen metabolism in growing lambs. *Journal of Animal Science*, *85*:3391–3399. DOI: https://doi.org/10.2527/jas.2007-0081
17. Leedle, J. A. Z., Barsuhn, I., & Hespell, R. B. (1986). Postprandial trends in estimated ruminal digesta polysaccharides and their relation to changes in bacterial groups and rumen fluid characteristics. *Journal of Animal Science, 62*:789-803. DOI: https://doi.org/10.2527/jas1986.623789x
18. Martinez, M.E., Ranilla, M. J., Tejido, M. L., Saro, C.,& Carro, M. D. (2010). Comparison of fermentation of diets of variable composition and microbial populations in the rumen of sheep and rusitec fermenters. ll. Protozoa population and diversity of bacterial communities. *Journal of Dairy Science*, *93*:3699-3712. DOI: https://doi.org/10.3168/jds.2009-2934
19. Masumimghodam, M. (2015) Effect of dietary non-fibrous carbohydrate level and barley grain processing on yield, nutrient digestibility and carcass characteristics of fattening lambs. M.Sc. Thesis, Yasuj University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Yasuj, Iran. (In Persian).
20. Mir Mohammadi, D. (2013). The effect of physical form of feed in diets with and without broiler litter on the performance of fattening lambs. M.Sc. Thesis. Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. (In Persian).
21. Miller, J. L. 1959. Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, *31*:426–429. DOI: http://dx.doi.org/10.1021/ac60147a030
22. National Research Council. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervide and New York Camelids. National Academy of Science, Washington, DC.
23. Santra, S., & Karim, S. A. (2000). Growth performance of faunated and defaunated Malpura weaner lambs. *Journal of Animal Feed Science Technology, 86*:251-260.
24. Sufi Siavash, R., & Janmohammadi, H. (2009). Livestock Nutrition. Translation. Amidi Publications, Tabriz, Iran. (In Persian).
25. Valizadeh Ghalebeig, A., Ghoorchi, T., & Hasani, S. (2020). Effects of physicochemical processing of wheat grain on ruminal microbial population, biochemical parameters and blood safety in Afshari male lambs. *Scientific Research Journal of Animal Environment,* *12*(3):41-51. (In Persian). DOI: https://doi.org/10.22034/aej.2020.110258
26. Woodward, A., & Reed, J.D. (1997). Nitrogen metabolism of sheep and goats consuming *Acacia brevispica* and *Sesbania sesban*. *Journal of Animal Science, 75*:1130-1139. DOI: https://doi.org/10.2527/1997.7541130x